

· 综述 ·

P27 的生物学功能及其在乳腺癌中的研究进展

刘晶晶 综述 张瑾 审校

近来 p27 基因与恶性肿瘤的关系引起了众多学者的关注。该基因编码的产物 P27 蛋白是一种细胞周期依赖性激酶的负性调控因子,参与细胞周期的调节。其表达下调与许多恶性肿瘤细胞的异常增殖关系密切。现对 P27 的生物学功能及其在乳腺肿瘤中的研究进展进行综述。

1 P27 的生物学功能

1.1 控制细胞周期

细胞周期是细胞生命活动的基本过程。细胞周期依赖性蛋白激酶(cyclin dependent kinase, CDK)作为细胞周期调控机制的核心物质,其活性的调节有多种途径参与:(1)与特定细胞周期素(cyclin)的结合和分离;(2)特定位点的磷酸化和去磷酸化;(3)细胞周期依赖性蛋白激酶抑制因子对其的抑制作用。P27 作为细胞周期负性调控因子,广泛抑制各种细胞周期蛋白和激酶的活性,主要是 cyclin E-CDK2 和 cyclin D-CDK4 等激酶复合物的活性。cyclin E-CDK2 是细胞通过 G₁/S 限制点的关键。P27 对 CDKs 的抑制作用主要通过两个方面完成:一是通过 C 末端抑制 CDK2 Thr160 的磷酸化,直接抑制 cyclin E2-CDK2 前活性状态复合物的激活过程;二是抑制 cyclin-CDKs 组蛋白 H1 的激酶活性和抑制 cyclin-CDKs 对下游靶蛋白 Rb 的磷酸化,使之与转录因子 E2F 结合,细胞周期停止于 G₁ 期。

1.1.1 P27 与细胞分化、增殖: P27 在细胞的分化发育中起着重要作用。p27 基因外源性高表达可使细胞 DNA 合成受抑制,细胞停止于 G 期而停止增殖。Nguyen 等^[1]研究发现, P27 可以独立的促进神经元分化和移行。P27 亦可诱导肿瘤细胞的分化,有研究报道 P27 表达的增加能明显提高 HT29 结肠癌细胞系对诱导分化的敏感性。

1.1.2 P27 与细胞凋亡: P27 作为 G₁/S 的调控点,其活性的改变与细胞凋亡

之间存在相关性。Zhang 等^[2]通过在裸鼠体内构建食道癌模型,发现通过腺病毒载体构建高表达的 P27,可以导致存活素(survivin)水平下降,进一步导致食道癌细胞的凋亡。Hsu 等^[3]的研究还发现蔬菜和水果中富含的查耳酮(chalcone)能上调 P27 的表达水平,促使细胞周期停滞,诱导人乳腺癌细胞凋亡,对乳腺癌的预防有很好的功效。

1.2 P27 与细胞间黏附

细胞间接触受抑制时 P27 的表达增加。这与 N-钙黏素的丛集或功能失活相关,而钙黏素具有介导细胞间和细胞与基质间的黏附作用。另外,P27 在阻止正常细胞与基质结合时,其表达水平也增加。研究发现,当培养的瘤细胞由单层向三维转化时,P27 表达增加,而用 P27 反义寡核苷酸链处理后,细胞间的黏附能力下降。目前认为,调节 P27 表达的信号可能通过改变细胞形状或改变细胞接受胞外信号的能力,而达到调节细胞间黏附的作用。由此可以认为 P27 可能是关键的黏附依赖效应调节因子。

1.3 P27 介导实质性肿瘤黏附依赖性耐药以及多药耐药

Croix 等将人类、小鼠肿瘤细胞立体培养成多细胞球体化,发现持续上调 P27 蛋白表达,对细胞周期依赖性化疗药物和放疗诱导的细胞凋亡产生抵抗。同样 Xing 等^[4]通过检测人卵巢癌多细胞球体中 P27 和 P-Glycoprotein(P-gp)的表达发现,多药耐药可能和 P27 的表达上调有关,P27 反义寡核苷酸可下调 P27 的表达,又在一定程度上可以逆转卵巢癌多药耐药性,可见 P27 在其中发挥了重要作用。有研究发现 P27 在两种耐药的乳腺癌细胞系(MCF-7、MDA-MB-231)中均低表达,表明 P27 水平下降可能是导致乳腺癌细胞多西他赛耐药的一个新机制。

2 P27 在乳腺发育及乳腺肿瘤中的相关研究

2.1 P27 与乳腺发育

Muraoka 等研究了鼠的乳腺发育,认为 P27 以一种浓度依赖方式对乳腺的正常发育起着重要作用。Deans 等^[5]通过研究发现乳腺癌基因1(BRCA1)失活可诱导 P27kip1 介导的细胞周期阻滞,进而延迟鼠的乳腺发育。有关研究发现,比起 P27 的纯合缺失,其杂合缺失使鼠乳腺上皮细胞对于癌基因诱导的恶性转化更加易感,前者因 P27 缺失严重破坏了 cyclin D1-CDK4 复合物的功能,反而使细胞更加稳定。近年 Murray 等^[6]在研究了环境污染导致的鼠乳

腺癌后,发现 cyclin D1、MDM2、蛋白激酶 B(AKT)及胞质定位的 P27 水平上调可能在其中发挥了作用。

2.2 P27 与乳腺癌发生与发展的关系

2.2.1 P27 的基因多态性与乳腺癌的关系: P27 基因在恶性肿瘤中很少发生突变。Cave 等发现 p27 基因多态性发生于第 109 密码子的单核苷酸转换,导致氨基酸出现缬氨酸到甘氨酸改变(即 Val 109Gly 多态性)。早期有研究显示:携带 Val 109Gly 突变型的患者,淋巴结转移数目增多。Val 109Gly 多态性与无病生存期缩短显著相关。p27 基因 Val 109Gly 多态性检测可帮助判断早期乳腺癌患者的预后。近期,Naidu 等^[7]也发现 p27 基因 Val 109Gly 多态性和淋巴结的转移状况明显相关,但是并不增加乳腺癌的发病危险。Figueiredo 等^[8]发现 p27 基因 Val109Gly 多态性在更高级别的肿瘤中有较小的保护效应,但是并未发现其与生存的关系,提示如果要明确其在乳腺癌中的预后作用应联合更多的相关基因进行检测。

2.2.2 P27 与乳腺癌激素受体的关系: 内源性雌激素通过形成雌激素受体复合物,参与乳腺上皮的生长、分化,对乳腺癌发生、发展起重要作用。Kourea 等^[9]研究了 170 例淋巴结阴性的乳腺浸润性导管癌患者,发现 P27 胞质水平的低表达和激素受体的阴性相关。Paruthiyil 等^[10]发现 ER β 能通过提高 P27 的表达水平导致 G₂ 期细胞阻滞,进而抑制肿瘤增殖。这些均提示乳腺激素受体与 P27 之间的关系可能在乳腺癌的发生、发展中起一定作用。近年 Millar 等^[11]研究了 60 例乳腺导管内癌患者,发现其中 P27 的水平 and 激素受体的状态呈正相关。

2.2.3 P27 与人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER-2) 表达的乳腺癌: HER-2 分子是表皮生长因子受体家族的第 2 位成员,HER-2 的表达与乳腺癌的发生、发展及侵袭转移有关^[12]。Zhang 等^[13]发现 ARF 蛋白在 HER-2 过表达的癌细胞中能对抗 PKB/Akt 介导的 P27 磷酸化,同时增加 P27 的稳定性,进一步发现 ARF 能降低 S 期激酶相关蛋白 2 (S-phase kinase associated protein-2, SKP2) 的水平,使 P27 的降解减少,从而最终控制 HER-2 过表达的肿瘤生长。Yang 等^[14]发现 FOXO4 (Forkhead box-04) 的突变型 FOXO4A3,可以抑制 PKB/Akt 的活性并且可以逆转 HER-2 导致的 P27 胞质定位,使 P27 的降解减少,从而控制 HER-2 过表达肿瘤的生长。

2.3 P27 与乳腺癌的治疗

2.3.1 P27 与化疗:在乳腺癌中,有许多分子标记物具有潜在的预后价值,然而只有很少一部分作为预测因子被评估。Spataro 等^[15]在 198 例随机接受无辅助治疗或单纯术中化疗且腋窝淋巴结转移阴性的乳腺癌患者中发现,P27 表达下调与细胞增殖密切相关,肿瘤细胞生长越快,对于周期活性的化疗药物的初始反应就越剧烈,但是部分肿瘤细胞很快对这些治疗产生耐药性,因此辅助化疗的疗效在 P27 低表达的患者中受到抑制。

2.3.2 P27 与内分泌治疗:内分泌治疗是乳腺癌重要的全身治疗手段之一。但即使是敏感的肿瘤细胞,也常常会对此类药物逐步产生拮抗。Porter 等^[16]在 S9313 实验中发现:激素受体阳性的患者,P27 低表达者的总生存率和无瘤生存率比 P27 高表达者的低,说明 P27 是癌细胞抗药性调节者。近年有研究表明,在乳腺癌患者中雌激素可 skp2 和胞外信号激酶途径下调体内 P27 的水平。还有研究^[17]表明孕激素可在转录水平上调 p27 基因,从而抑制乳腺癌细胞的生长。因此,能够选择性激活 p27 基因启动子的孕激素衍生物,可以为乳腺癌的治疗带来希望。P27 与抗雌激素药的治疗效果有关,而受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)通过磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)和有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸化的活化作用消除 P27 的作用,因此联合应用抗雌激素药和抗 RTK 活性的分子抑制剂可能会有利于抑制抗药性。Chu 等^[18]发现在对他莫昔芬耐药的乳腺癌细胞株中,抑制癌基因编码的酪氨酸激酶 Src 可以升高 P27 的水平,进而恢复对他莫昔芬的敏感性,从而为乳腺癌的内分泌治疗提供了新的研究方向。

2.3.3 P27 与分子靶向治疗:随着医学新技术的不断出现,早期乳腺癌患者的外科治疗效果得到了明显的提高。但是,当肿瘤细胞发生远处器官转移后,尤其是多发性转移者,抗 HER-2 抗体可将效应分子有选择地运送到 HER-2 阳性的肿瘤细胞,特异性发挥杀伤作用。Nahta 等^[19]的研究表明曲妥珠单克隆抗体的耐药性和 P27 低表达有关,从而可以推测曲妥珠单克隆抗体耐药可能对诱导 P27 表达的治疗敏感。有研究^[20]表明:P27 是 HER-2 靶向抗体作用机制中的一个关键环节;抗 HER-2 抗体可以通过六条途径上调 P27 水平并激活其功能,最终导致 G₁ 期细胞阻滞和生长抑制。

2.3.4 P27 与基因治疗: P27kip1 氨基端第187号位置的苏氨酸磷酸化位点是该蛋白分子中重要的磷酸化位点, Cyclin E-CDK2 对其 Thr187 的磷酸化导致 P27-Kip1 的泛素化和降解。Zhang 等^[21] 通过人工诱变该位点苏氨酸为丙氨酸 (T187A) 后, 发现转导后的 P27 相比野生型 P27 不易被降解, 而且在诱导细胞阻滞和凋亡等方面效应增强。且在乳腺癌细胞系中, T187A 联合多西环素调控的腺病毒将导致更强的增殖抑制及更广泛的凋亡, 预示着经转导后的 P27 可以在乳腺癌基因治疗中发挥作用。Yang 等^[22] 发现 thr187 突变或者 JAB1 结合区域去除的改良 P27 能缩小 HER-2 过表达的瘤体体积。这为 HER-2 过表达患者的基因治疗带来了希望, 特别是联合多种基因治疗提供了广阔的前景。另外 P27 对于各种癌细胞系的 G 期细胞阻滞和凋亡的联合效应, 使携带 P27 的腺病毒载体也成为有意义的基因治疗工具。

2.4 P27 与乳腺癌的预后

1997 年国际上 3 项独立的研究机构分别报道 P27 表达水平的降低预示着乳腺癌患者的低生存率。近年来, Tsutsui 等^[23] 研究发现 10 号染色体丢失的磷酸酶和张力蛋白同源体基因 (gene for phosphatase and tensin homology deleted on chromosometen, PTEN) 蛋白水平的下降和 P27 蛋白低水平表达显著相关, 两者同时降低的患者预后差, 表明 PTEN 和 P27 联合丢失与乳腺癌的浸润性表型相关。Traub 等^[24] 对 138 例乳腺癌患者通过多变量分析法证明 P27、SKP2 的表达水平具有明显的相关性, P27 低表达, SKP2 高表达患者的肿瘤恶性程度明显增高, 提示 SKP2/P27 指数能反应肿瘤的侵袭性。Tsutsui 等^[25] 研究发现 Bcl-2 蛋白水平和 P27、P53 及增殖指数密切相关, 但是 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B cell lymphoma/ leukemia-2, Bcl-2)、P27 和 P53 的预后价值还需依靠乳腺癌的增殖活性决定。然而 Kourea 等^[9] 研究了 170 例淋巴结阴性的乳腺浸润性导管癌患者, 发现 P27Kip1、P21 和 P53 与无病生存期及总生存期无关。

3 结语

目前关于 p27 基因的生物学功能及其与乳腺癌关系的研究已经取得了丰硕的成果, 尤其肯定了 P27 在化疗、内分泌治疗、预后等各方面具有明确的预测作用。另外, 人工调节 P27 的表达水平及其外部干涉 P27 的作用通路等, 也为乳腺癌的基因治疗带来了新的希望。但关于 P27 的有些问题还需要继续深

入研究,如乳腺癌细胞中 P27 蛋白合成、降解的调节机制,p27 基因与其他调节细胞周期的基因之间的相互作用关系及其机制,p27 基因转染对正常组织、器官的影响等。相信随着对 p27 基因研究的不断深入,以该基因为靶点的乳腺癌治疗将取得更明显、更稳定的效果。

【关键词】 P27; 生物学功能; 乳腺癌; 化疗; 内分泌治疗; 分子靶向治疗; 基因治疗

【中图法分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A

参考文献

- [1] Nguyen L, Besson A, Heng J I, *et al.* P27kip1 independently promotes neuronal differentiation and migration in the cerebral cortex. *Genes Dev*,2006,20:1511 - 1524.
- [2] Zhang W G, Wu Q M, Yu J P, *et al.* Adenovirus expressing p27kip1 suppresses growth of established esophageal carcinoma xenografts. *World J Gastroenterol*,2005,11: 6582 - 6586.
- [3] Hsu Y L, Kuo P L, Tzeng W S, *et al.* Chalcone inhibits the proliferation of human breast cancer cell by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis. *Food Chem Toxicol*,2006,44:704 - 713.
- [4] Xing H, Wang S, Hu K, *et al.* Effect of the cyclin-dependent kinases inhibitor P27 on resistance of ovarian cancer multicellular spheroids to anticancer chem-otherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*,2005,131:511 - 519.
- [5] Deans AJ, Simpson K J, Trivett M K, *et al.* Bracl inactivation induces p27Kip1 dependent cell cycle arrest and delayed development in the mouse mammary gland. *Oncogene*,2004,23:6136 - 6145.
- [6] Murray S A, Yang S, Demicco E, *et al.* Increased expression of MDM2, cyclin D1, and p27 kip1 in carcinogen induced rat mammary tumors. *J Cell Biochem*,2005,95: 875 - 884.
- [7] Naidu R, Har Y C, Taib N A, *et al.* P27 V109G polymorphism is associated with lymph node metastases but not with increased risk of breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res*,2007,26:133 - 140.
- [8] Figueiredo J C, Knight J A, Cho S, *et al.* Polymorphisms cMyc-N11S and p27-V109G and breast cancer risk and prognosis. *BMC Cancer*,2007,14:99 - 107.
- [9] Kourea H P, Koutras A K, Zolota V, *et al.* Expression of p27kip1, p21WAF1 and p53 does not correlate with prognosis in node-negative invasive ductal carcinoma of the breast. *Anticancer Res*,2006,26: 1657 - 1668.
- [10] Paruthiyil S, Parmar H, Kerekatte V, *et al.* Estrogen receptor beta inhibits Human breast cancer cell proliferation and tumor formation by causing a G2 cell cycle arrest. *Cancer Res*,2004,64: 423 - 428.
- [11] Millar EK, Tran K, Marr P, *et al.* p27kip-1 cyclin A and cyclin D1 protein expression in ductal carcinoma in situ of the breast: p27kip-1 correlates with hormone receptor status but not with local recurrence. *Pathology Int*, 2007, 57: 183 - 189.
- [12] 令华,刘巍,宋丽楠,等. BCSG1、C-erbB-2、VEGF 表达与乳腺癌临床病理因素相关性研究. *中华乳腺病杂志(电子版)*,2007,1:82 - 86.
- [13] Zhang Y, Yang H Y, Zhang X C, *et al.* Tumor suppressor ARF inhibits HER-2/neu mediated oncogenic growth. *Oncogene*, 2004,23:7132 - 7143.
- [14] Yang H, Zhao R, Yang H Y, *et al.* Constitutively active FOXO4 inhibits Akt activity, regulates p27kip1 stability, and suppresses HER-2-mediated tumorigenesis. *Oncogene*,2005,24:1924 - 1935.

- [15] Spataro V J, Litman H, Viale G, *et al.* Decreased immunoreactivity for p27 protein in patients with early stage breast carcinoma is correlated with HER-2/neu over expression and with benefit from one course of perioperative chemotherapy in patients with negative lymph node status; results from International Breast Cancer Study Group Trial V. *Cancer*, 2003, 97: 1591 - 1600.
- [16] Porter P L, Barlow W E, Yeh I T, *et al.* p27(kip1) and cyclin E expression and breast cancer survival after treatment with adjuvant chemotherapy. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98:1723 - 1731.
- [17] Carrol J S, Lynch D K, Swarbrick A, *et al.* P27kip1 induces quiescence and growth factor insensitivity in tamoxifen-treated breast cancer cells. *Cancer Res*, 2003, 63:4322 - 4326.
- [18] Chu I, Sun J, Arnaout A, *et al.* P27 phosphorylation by src regulates inhibition of cyclin E-Cdk2. *Cell*, 2007, 128:281 - 294.
- [19] Nahta R, Takahashi T, Ueno N, *et al.* P27kip1 down regulation is associated with trastuzumab resistance in breast cancer cells. *Cancer Res*, 2004, 64:3981 - 3986.
- [20] Le X F, Pruefer F, Bast RC J R, *et al.* HER-2-targeting antibodies modulate the cyclin dependent kinase inhibitor p27 kip1 via multiple signaling pathways. *Cell Cycle*, 2005, 4:87 - 95.
- [21] Zhang Q, Tian L, Mansouri A, *et al.* Inducible expression of a degradation resistant form of p27kip1 causes growth arrest and apoptosis in breast cancer cells. *FEBS Lett*, 2005, 579:3932 - 3940.
- [22] Yang H, Yang H, Zhao R, *et al.* Modified p27 kip1 is efficient in suppressing HER-2-mediated tumorigenicity. *J Cell Biochem*, 2006, 98:128 - 138. [23] Tsutsui S, Inoue H, Yasuda K, *et al.* Inactivation of PTEN is associated with low p27kip1 protein expression in breast carcinoma. *Cancer*, 2005, 104:2048 - 2053.
- [24] Traub F, Mengel M, Luck H J, *et al.* Prognostic impact of Skp2 and p27 in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 99:185 - 191.
- [25] Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, *et al.* Bcl-2 protein expression is associated with p27 and p53 protein expressions and MIB-1 counts in breast cancer. *BMC Cancer*, 2006, 6:187 - 194.

(收稿日期:2008-01-29)

(本文编辑:陈莉)

刘晶晶. P27 的生物学功能及其在乳腺癌中的研究进展[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2008, 2(3):308 - 314.